



F3

①9 BUNDESREPUBLIK  
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES  
PATENTAMT

⑫ Offenlegungsschrift  
⑩ DE 42 29 903 A 1

⑤1 Int. Cl.<sup>5</sup>:  
C 07 H 15/04  
A 61 K 31/70  
A 61 K 31/665

②1 Aktenzeichen: P 42 29 903.9  
②2 Anmeldetag: 8. 9. 92  
④3 Offenlegungstag: 10. 3. 94

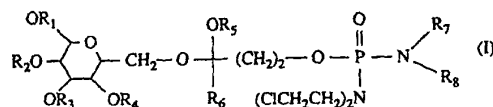
DE 42 29 903 A 1

⑦1 Anmelder:  
Bayer AG, 51373 Leverkusen, DE

⑦2 Erfinder:  
Tietze, Lutz F., Prof. Dr., 3400 Göttingen, DE; Lögers,  
Michael, Dr., 4800 Bielefeld, DE

⑤4 Neue Acetale von Ketophosphamid und Alkylglycosiden

⑤7 Die vorliegende Erfindung betrifft neue Acetale von Ketophosphamid und Alkylglycosiden der allgemeinen Formel I



in welcher R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub>, R<sub>5</sub>, R<sub>6</sub>, R<sub>7</sub> und R<sub>8</sub> die in der Beschreibung angegebene Bedeutung haben, Verfahren zu ihrer Herstellung und ihre Verwendung als hochselektive Cytostatika in der Krebstherapie.

DE 42 29 903 A 1

Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen

BUNDESDRUCKEREI 01. 94 308 070/361

13/43

## Beschreibung

Die vorliegende Erfindung betrifft neue Acetale von Ketophosphamid und Alkylglycosiden, Verfahren zu ihrer Herstellung und ihre Verwendung als hochselektive Cytostatika in der Krebstherapie.

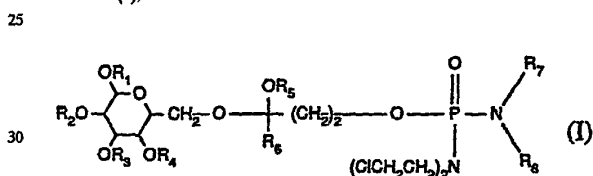
Es ist bekannt, daß maligne Zellen eine gegenüber dem Normalgewebe erhöhte Glycolyse und damit Lactatproduktion aufzeigen und der pH-Wert im Tumorgewebe durch intravenös verabreichte Glucose gesenkt werden kann (vgl. S. Tanneberger, Experimentelle und klinische Tumorchemotherapie; Allgemeine Tumorchemotherapie; G. Fischer Verlag, Stuttgart/New York 1980; Naturwiss. 46, 2(1959); Cancer Res. 42, 1498 (1982); 42, 1505 (1982)).

In der Vergangenheit wurde versucht, diese Unterschiede im pH-Wert zwischen normalem und Tumorgewebe für eine selektive Tumorthherapie auszunutzen (vergl. Liebigs Ann. Chem. 1987, 847—856; Tetrahedron Lett. 22 (1981) 239—242). Es war angestrebt worden, alkylierende Verbindungen, die wegen einer zu geringen Differenzierung zwischen gesundem und malignem Gewebe eine sehr geringe therapeutische Breite aufweisen, in untoxische, säurelabile Prodrug-Formen zu überführen, die nur im Tumorgewebe aufgrund des dort vorherrschenden erniedrigten pH-Wertes selektiv gespalten werden zum aktiven, alkylierend wirkenden Cytostatikum. Auf diese Weise sollte eine selektive Tumorthherapie angestrebt werden.

Es hatte sich aber gezeigt, daß die in der oben angeführten Literaturstelle hergestellten Verbindungen sich nicht als so säurelabil erwiesen, als daß sie selektiv im Tumorgewebe zum aktiven cytociden Agens rückgespalten wurden.

Es wurde nun überraschenderweise festgestellt, daß die folgenden genannten Verbindungen untoxisch sind, während sie bei dem im Tumorgewebe durch Hyperglykämie erreichbaren pH-Wert durch Hydrolyse in cytocide Verbindungen überführt werden können.

Die vorliegende Erfindung betrifft neue Acetale von Ketophosphamid und Alkylglycosiden der allgemeinen Formel (I),



in welcher

35  $R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^3$  und  $R^4$  gleich oder verschieden sind und für Wasserstoff, geradkettiges oder verzweigtes Alkyl mit bis zu 6 Kohlenstoffatomen oder für eine Hydroxyschutzgruppe stehen,  
 $R^5$  für geradkettiges oder verzweigtes Alkyl mit bis zu 8 Kohlenstoffatomen steht,  
 $R^6$  für geradkettiges oder verzweigtes Alkyl mit bis zu 8 Kohlenstoffatomen steht,  
 $R^7$  und  $R^8$  gleich oder verschieden sind und für Wasserstoff oder für geradkettiges oder verzweigtes Alkyl mit  
 40 bis zu 6 Kohlenstoffatomen stehen, das gegebenenfalls durch Chlor substituiert ist,  
 und wobei der Zuckerrest für Aldohexosen und die entsprechenden Pyranosiden steht und sowohl in der D- oder L-Form und mit  $\alpha$ - oder  $\beta$ -Konfiguration am anomeren Zentrum vorliegen kann.

Hydroxyschutzgruppe im Rahmen der oben angegebenen Definition steht im allgemeinen für eine Schutzgruppe aus der Reihe: tert.Butoxydiphenylsilyl, Trimethylsilyl, Triethylsilyl, Triisopropylsilyl, tert.Butyldimethylsilyl, tert.-Butyldiphenylsilyl, Triphenylsilyl, Trimethylsilylethoxycarbonyl, Benzyl, Benzoyloxycarbonyl, 2-Nitrobenzyl, 4-Nitrobenzyl, 2-Nitrobenzyloxycarbonyl, 4-Nitrobenzyloxycarbonyl, tert. Butyloxycarbonyl, Allyloxycarbonyl, 4-Methoxybenzyl, 4-Methoxybenzyloxycarbonyl, Formyl, Acetyl, Trichloroacetyl, 2,2,2-Trichloroethoxycarbonyl, 2,4-Dimethoxybenzyl, 2,4-Dimethoxybenzyloxycarbonyl, Methylthiomethyl, Methoxyethoxymethyl, [2-(Trimethylsilyl)ethoxy]methyl, 2-(Methylthiomethoxy)ethoxycarbonyl, Benzoyl, 4-Methylbenzoyl, 4-Nitrobenzoyl, 4-Fluorbenzoyl, 4-Chlorbenzoyl oder 4-Methoxybenzoyl. Bevorzugt sind Acetyl, Benzoyl, Benzyl oder Methylbenzyl.

Aldohexosen steht beispielsweise für D-(+)-Glucose, L-(-)-Glucose, D-(+)-Mannose, L-(-)-Mannose, D-(+)-Galactose und L-(-)-Galactose. Bevorzugt ist hier die D-(-)-Glucose.

Bevorzugt sind Verbindungen der allgemeinen Formel (I),

55 in welcher

$R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^3$  und  $R^4$  gleich oder verschieden sind und für Wasserstoff, geradkettiges oder verzweigtes Alkyl mit bis zu 4 Kohlenstoffatomen oder für Acetyl, Benzyl oder Benzoyl stehen,  
 $R^5$  für geradkettiges oder verzweigtes Alkyl mit bis zu 6 Kohlenstoffatomen steht,  
 $R^6$  für geradkettiges oder verzweigtes Alkyl mit bis zu 6 Kohlenstoffatomen steht,  
 60  $R^7$  und  $R^8$  gleich oder verschieden sind und für Wasserstoff oder für geradkettiges oder verzweigtes Alkyl mit bis zu 5 Kohlenstoffatomen stehen, das gegebenenfalls durch Chlor substituiert ist  
 und wobei der Zuckerrest für Aldohexosen und die entsprechenden Pyranosiden steht und sowohl in der D- oder L-Form und mit  $\alpha$ - oder  $\beta$ -Konfiguration am anomeren Zentrum vorliegen kann.

Besonders bevorzugt sind Verbindungen der allgemeinen Formel (I),

65 in welcher

$R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^3$  und  $R^4$  gleich oder verschieden sind und für Wasserstoff, geradkettiges oder verzweigtes Alkyl mit bis zu 3 Kohlenstoffatomen oder für Acetyl, Benzyl oder Benzoyl stehen,  
 $R^5$  für geradkettiges oder verzweigtes Alkyl mit bis zu 4 Kohlenstoffatomen steht,

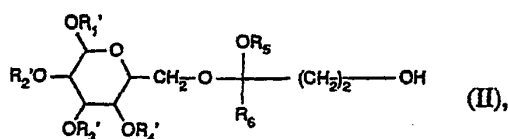
R<sup>6</sup> für geradkettiges oder verzweigtes Alkyl mit bis zu 4 Kohlenstoffatomen steht,  
 R<sup>7</sup> und R<sup>8</sup> gleich oder verschieden sind und für Wasserstoff oder für geradkettiges oder verzweigtes Alkyl mit  
 bis zu 4 Kohlenstoffatomen stehen, das gegebenenfalls durch Chlor substituiert ist,  
 und wobei der Zuckerrest für Aldohexosen und die entsprechenden Pyranosiden steht und sowohl in der D- oder  
 L-Form und mit  $\alpha$ - oder  $\beta$ -Konfiguration am anomeren Zentrum vorliegen kann.

Ganz besonders bevorzugt sind Verbindungen der allgemeinen Formel (I),  
 in welcher

R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup> und R<sup>4</sup> gleich oder verschieden sind und für Wasserstoff, Methyl, Ethyl oder Acetyl stehen,  
 R<sup>5</sup> für Methyl oder Ethyl steht,  
 R<sup>6</sup> für Methyl steht,  
 R<sup>7</sup> und R<sup>8</sup> für Wasserstoff stehen

und wobei der Zuckerrest für eine D-Glucose mit  $\alpha$ - oder  $\beta$ -Konfiguration an anomeren Zentrum steht.

Außerdem wurde ein Verfahren zur Herstellung der erfindungsgemäßen Verbindungen der allgemeinen  
 Formel (I) gefunden, dadurch gekennzeichnet, daß man Verbindungen der allgemeinen Formel (II)



in welcher

R<sup>1'</sup>, R<sup>2'</sup>, R<sup>3'</sup> und R<sup>4'</sup> die oben angegebene Bedeutung von R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup> und R<sup>4</sup> haben, aber nicht für Wasserstoff  
 stehen

und

R<sup>5</sup> und R<sup>6</sup> die oben angegebene Bedeutung haben,

mit N,N-Bis-(2-chlorethyl)-phosphorsäureamidchlorid der Formel (III)



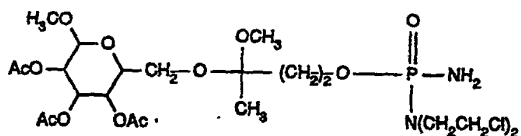
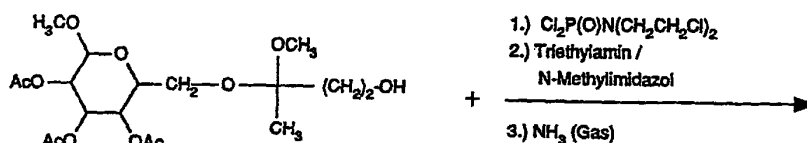
in inerten Lösemitteln, in Anwesenheit einer Base und eines Hilfsstoffes umsetzt,

anschließend eine Ammonolyse durchführt,

und im Fall, daß R<sup>7</sup> und/oder R<sup>8</sup> nicht Wasserstoff bedeuten, die oben aufgeführten übrigen Substituenten nach  
 üblichen Methoden einführt,

und in einem letzten Schritt gegebenenfalls durch Abspaltung der Schutzgruppe R<sup>2'</sup>, R<sup>3'</sup>, R<sup>4'</sup> und/oder R<sup>1'</sup> die  
 Hydroxyfunktionen freisetzt.

Das erfindungsgemäße Verfahren kann durch folgendes Formelschema beispielhaft erläutert werden:



Als Lösemittel eignen sich die üblichen organischen Lösemittel, die sich unter den Reaktionsbedingungen  
 nicht verändern. Hierzu gehören bevorzugt Ether wie Diethylether, Dioxan, Tetrahydrofuran, Glykoldimethy-  
 lether, oder Kohlenwasserstoffe wie Benzol, Toluol, Xylol, Hexan, Cyclohexan, Erdölfraktionen, oder Halogen-  
 kohlenwasserstoffe wie Dichlormethan, Trichlormethan, Tetrachlormethan, Dichlorethylen, Trichlorethylen  
 oder Chlorbenzol, oder Essigester, Dimethylsulfoxid, Dimethylformamid, Acetonitril, Aceton oder Nitromethan.  
 Ebenso ist es möglich, Gemische der genannten Lösemittel zu verwenden. Bevorzugt sind Tetrahydrofuran,  
 Dichlormethan und Toluol.

Als Basen eignen sich 1,8-Diazabicyclo[5,4,0]undec-7-en, Imidazol, Pyridin, Tetrazol und die üblichen organi-  
 schen Amine. Hierzu gehören bevorzugt Alkylamine wie Triethylamin, Diisopropylamin, Dicyclohexylamin und

Ethyl-diisopropylamin. Besonders bevorzugt sind Triethylamin, 1,8-Diazabicyclo[5,4,0]undec-7-en und Pyridin.

Als Hilfstoffe eignen sich N-Methylimidazol und Dimethylaminopyridin (DMAP). Bevorzugt ist N-Methylimidazol.

Die Basen und Hilfsstoffe werden im allgemeinen in einer Menge von 1 bis 5 mol, bevorzugt von 1 bis 1,75 mol, jeweils bezogen auf 1 Mol der Verbindungen der allgemeinen Formel (III) eingesetzt.

Die Umsetzung wird im allgemeinen bei Normaldruck durchgeführt. Es ist aber auch möglich, das Verfahren bei Überdruck oder bei Unterdruck durchzuführen (z. B. in einem Bereich von 0,5 bis 5 bar).

Das erfindungsgemäße Verfahren wird im allgemeinen in einem Temperaturbereich von 0°C bis +60°C, bevorzugt bei Raumtemperatur durchgeführt.

Die oben aufgeführten Reaktionsbedingungen werden auch während der Ammonolyse nicht verändert. Das durch die Durchleitung des Ammoniakstroms verdampfte Lösemittel wird während der Umsetzung ersetzt.

Die Abspaltung der Schutzgruppen am Zuckerrest erfolgt nach üblicher Methode in inerten Lösemitteln in Anwesenheit einer Base oder durch Hydrogenolyse.

Als Basen eignen sich für die Abspaltung die üblichen anorganischen Basen. Hierzu gehören bevorzugt Alkalihydroxide oder Erdalkalihydroxide wie beispielsweise Natriumhydroxid, Kaliumhydroxid oder Bariumhydroxid, oder Alkalicarbonat wie Natrium- oder Kaliumcarbonat oder Natriumhydrogencarbonat, oder Alkali-alkoholate wie Natriummethanolat, Natriummethanolat, Kaliummethanolat, Kaliummethanolat oder Kalium-tert.butanolat. Besonders bevorzugt werden Natriumcarbonat oder Kaliumcarbonat eingesetzt.

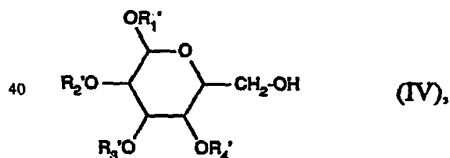
Als Lösemittel eignen sich für die Abspaltung die für eine Verseifung üblichen organischen Lösemittel. Hierzu gehören bevorzugt Alkohole wie Methanol, Ethanol, Propanol, Isopropanol oder Butanol, oder Ether wie Tetrahydrofuran oder Dioxan, oder Dimethylformamid oder Dimethylsulfoxid. Besonders bevorzugt werden Alkohole wie Methanol, Ethanol, Propanol oder Isopropanol verwendet. Ebenso ist es möglich, Gemische der genannten Lösemittel einzusetzen.

Die Abspaltung wird im allgemeinen in einem Temperaturbereich von 0°C bis +60°C, bevorzugt von +20°C bis +40°C durchgeführt. Im allgemeinen wird die Abspaltung bei Normaldruck durchgeführt. Es ist aber auch möglich, bei Unterdruck oder bei Überdruck zu arbeiten (z. B. von 0,5 bis 5 bar).

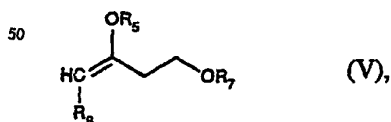
Die Abspaltung von speziellen Hydroxyschutzgruppen (Silyl- und Benzylgruppen) erfolgt beispielsweise mit Tetrabutylammoniumfluorid oder durch hydrogenolytische Spaltung, im Fall der Benzylgruppe in Anwesenheit eines Katalysators, beispielsweise ein Gemisch aus Palladium/C und Palladium/CaCO<sub>3</sub>, mit Wasserstoff, in einem der oben aufgeführten Lösemittel, vorzugsweise Methanol, in einem Temperaturbereich von 0°C bis 40°C, vorzugsweise bei Raumtemperatur.

N,N-Bis-(2-chlorethyl)-phosphorsäureamidchlorid der Formel (III) ist bekannt [vgl. J. Am. Chem. Soc. 76, 655 (1954)].

Die Verbindungen der allgemeinen Formel (II) sind neu und können hergestellt werden, indem man Glucopyranoside der allgemeinen Formel (IV)

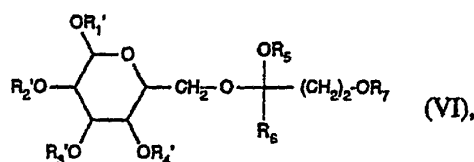


45 in welcher R<sup>1'</sup>, R<sup>2'</sup>, R<sup>3'</sup> und R<sup>4'</sup> die oben angegebene Bedeutung haben, zunächst durch Umsetzung mit Enolethern der allgemeinen Formel (V)



55 in welcher R<sup>5</sup> die oben angegebene Bedeutung hat, R<sup>7</sup> für eine der oben aufgeführten Silylhydroxyschutzgruppen, vorzugsweise für tert.Butoxy-diphenylsilyl steht und  
60 R<sup>6</sup> für Wasserstoff (R<sup>6</sup> = CH<sub>3</sub>/Formel I), oder für geradkettiges oder verzweigtes C<sub>1</sub>—C<sub>7</sub>-Alkyl steht, (R<sup>6</sup> = C<sub>2</sub>—C<sub>7</sub>-Alkyl/Formel I)  
in einem der oben aufgeführten Lösemittel und in Anwesenheit eines Katalysators und einer Base in die Verbindungen der allgemeinen Formel (VI)

65



in welcher  
 $R^1, R^2, R^3, R^4, R^5, R^6$  und  $R^7$  die oben angegebene Bedeutung haben,  
 überführt, und in einem letzten Schritt die Schutzgruppe  $R^7$  nach üblichen Methoden abspaltet.

Als Lösemittel eignen sich die oben aufgeführten Halogenkohlenwasserstoffe, insbesondere Methylenchlorid.  
 Die Umsetzung mit den Enolethern erfolgt unter Schutzgasatmosphäre, in einem Temperaturbereich von  $0^\circ\text{C}$  bis  $+40^\circ\text{C}$ , vorzugsweise bei Raumtemperatur und Normaldruck.

Als Base eignet sich neben den oben aufgeführten Basen insbesondere Triethylamin.

Als Katalysatoren werden im allgemeinen substituierte Arylsulfonsäuren, wie beispielsweise Naphthylsulfonsäure, p-Toluolsulfonsäure (PTS) oder Pyridinium-p-toluolsulfonat (PPTS) oder  $C_1$ – $C_4$ -Alkylsulfonsäuren eingesetzt. Bevorzugt ist Pyridinium-p-toluolsulfonat.

Der Katalysator wird in einer Menge von 0,1 mol bis 5 mol, bevorzugt von 0,1 mol bis 0,5 mol, bezogen auf 1 mol der Verbindungen der allgemeinen Formel (II) eingesetzt.

Die Desilylierung erfolgt neben der oben aufgeführten Methode bevorzugt mit Tetra-n-butylammoniumfluorid/ $\text{H}_2\text{O}$  in Anwesenheit von Tetrahydrofuran und bei Raumtemperatur.

Die Verbindungen der allgemeinen Formel (IV) und (V) sind bekannt oder können nach üblichen Methoden hergestellt werden.

Die Verbindungen der allgemeinen Formel (VI) sind neu und können dann nach den oben aufgeführten Verfahren hergestellt werden.

Die erfindungsgemäßen Verbindungen zeigen ein nicht vorhersehbares, wertvolles pharmakologisches Wirkungsspektrum.

Die säurelabilen Derivate des inaktivierten Keotphosphamids der allgemeinen Formel (I) stellen ein Cytostatikum dar, das in seiner Transportform untoxisch ist. Bei dem im Tumorgewebe durch Hyperglykämie erreichbaren pH-Wert setzen sie durch Hydrolyse eine cytocide Verbindung, die Friedman-Säure, frei.

Die kinetischen Messungen zur säurekatalysierten Hydrolyse wurden bei  $35^\circ\text{C}$  in einem Varian FT-80A-NMR-Spektrometer durchgeführt. Die Substanzen wurden hierfür in einem Sorensenpuffer (pH 6,2) gelöst, wobei zur Erhöhung der Löslichkeit auch einige Versuche in einem 40%igen  $\text{d}_6[1,4\text{-Dioxan}]/\text{D}_2\text{O}$ -Gemisch vorgenommen wurden. Aus den FT-80-NMR-Spektren wurden die relativen Konzentrationen des verbleibenden Acetals durch Ausmessen der Integralhöhe des charakteristischen  $1'\text{-CH}_3$ -Signals bestimmt. Für sämtliche Deuterolysekinetiken wurde ein Geschwindigkeitsgesetz 1. Ordnung  $\ln [A]_t = \ln [A]_0 - k_{\text{obs}} \times t$  gefunden. Die angegebenen Hydrolysekonstanten sind Mittelwerte aus drei Meßreihen mit der Verbindung aus Beispiel 1.

pD	$k_{\text{obs}} [10^{-4} \text{ s}^{-1}]$	$k_D [1/\text{mol} \times \text{s}]$	Berechnet $k_H [1/\text{mol} \times \text{s}]$	$t_{1/2}$ bei pH 6,2
5,74	$3,98 \pm 0,34$	$219 \pm 19$	150	2,0 h

#### Überprüfung der cytotoxischen Wirksamkeit im Zellkulturtest

Mit den Ketophosphamid-Prodrug (Verbindung aus Beispiel VII) wurden Untersuchungen an Krebszellen der Zelllinie BIR-M1, die dem Mamma-Karzinom von Marshall-Ratten entstammen, durchgeführt und die Überlebensrate der Zellen in Abhängigkeit vom pH-Wert des Mediums und der Dosis untersucht. Bei pH 7,4 als Modell für eine Normalzellpopulation wurde nur eine geringe Toxizität, bei pH 6,2 als Modell für eine Krebszellpopulation unter den Bedingungen der Hyperglykämie hingegen eine um den Faktor  $> 10\,000$  verringerte Überlebensrate der Krebszellen bei einer Dosis von  $10\text{ }\mu\text{g/ml}$  gefunden.

Ein Vergleich der  $\text{IC}_{10}$  bei pH 7,4 und bei pH 6,2 ergab ein Verhältnis der erforderlichen Substanzmengen von  $100 : 1$ ; d. h. zur Zerstörung von 90% der Zellpopulation ist bei pH 7,4 (pH-Wert der Normalzelle) die 100fache Menge der Verbindung aus Beispiel VII wie bei pH 6,2 (pH-Wert eines malignen Tumors unter Hyperglykämie) erforderlich.

Zur vorliegenden Erfindung gehören pharmazeutische Zubereitungen, die neben nicht-toxischen, inerten pharmazeutisch geeigneten Trägerstoffen eine oder mehrere Verbindungen der Formel (I) enthalten oder die aus einem oder mehreren Wirkstoffen der Formel (I) bestehen, sowie Verfahren zur Herstellung dieser Zubereitungen.

Die Wirkstoffe der Formel (I) sollen in den oben aufgeführten pharmazeutischen Zubereitungen, vorzugsweise in einer Konzentration von etwa 0,1 bis 99,5, vorzugsweise von etwa 0,5 bis 95 Gew.-% der Gesamtmischung vorhanden sein.

Die oben aufgeführten pharmazeutischen Zubereitungen können außer den Verbindungen der Formel (I)

auch weitere pharmazeutische Wirkstoffe enthalten.

Die Herstellung der oben aufgeführten pharmazeutischen Zubereitungen erfolgt in üblicher Weise nach bekannten Methoden, z. B. durch Lösen des oder der Wirkstoffe in einem Lösemittel, vorzugsweise einem leicht basischen wäßrigen Puffer.

- 5 Im allgemeinen hat es sich sowohl in der Human- als auch in der Veterinärmedizin als vorteilhaft erwiesen, den oder die erfindungsgemäßen Wirkstoffe in Gesamtmengen von etwa 0,5 bis etwa 500, vorzugsweise 1 bis 150 mg/kg Körpergewicht je 24 Stunden, gegebenenfalls in Form mehrerer Einzelgaben, zur Erzielung der gewünschten Ergebnisse zu verabreichen. Eine Einzelgabe enthält den oder die Wirkstoffe vorzugsweise in Mengen von etwa 1 bis etwa 100, insbesondere 1 bis 80 mg/kg Körpergewicht. Es kann jedoch erforderlich sein, 10 von den genannten Dosierungen abzuweichen, und zwar in Abhängigkeit von der Art und dem Körpergewicht des zu behandelnden Objekts, der Art und der Schwere der Erkrankung, der Art der Zubereitung und der Applikation des Arzneimittels sowie dem Zeitraum bzw. Intervall, innerhalb welchem die Verabreichung erfolgt.

#### Abkürzungen im experimentellen Teil

- 15 PPTS = Pyridinium-p-toluolsulfonat  
 ET<sub>3</sub>N = Triethylamin  
 tBuOCH<sub>3</sub> = tert. Butylmethylether  
 PE = Petrolether  
 20 SiMe<sub>2</sub>tBu = tert. Butyl-dimethylsilyl  
 SiPh<sub>2</sub>OtBu = tert. Butoxy-diphenylsilyl  
 TBAF = Tributylammoniumfluorid  
 CSA = Camphersulfonsäure  
 TFA = Trifluoressigsäure

- 25 Allgemeine Arbeitsvorschrift 1 (Umsetzung der Verbindungen der allgemeinen Formeln (IV) und (V) → (VI))

#### Addition von partiell geschützten Kohlenhydraten an exo-Methylen-Enolether (PPTS-Katalyse)

- 30 In einem ausgeheizten und mit Argon belüfteten Rundkolben mit 200 mg Molekularsieb 4 A gibt man zu 1,00 mmol der Hydroxyverbindung (allgemeine Formel IV) in 4 ml trockenem Methylenchlorid 63 mg (0,25 mmol) Pyridinium-p-toluolsulfonat (PPTS) und 1,00–2,50 mmol des exo-Methylen-Enolethers (allgemeine Formel V) und rührt bei Raumtemperatur (Reaktionszeit: 20–60 min für β-Alkoxyenolether). Durch Zugabe von 0,1 ml ET<sub>3</sub>N wird die Reaktion abgebrochen und unverzüglich über 4 g Kieselgel (32–63 µm, 100 ml 35 tBuOMe) filtriert. Das nach Einengen erhaltene Öl wird an 40 g Kieselgel (32–63 µm, tBuOMe/PE 2 : 3, 0,7% Et<sub>3</sub>N) chromatographiert und im Hochvakuum (< 0,5 Torr) getrocknet.

#### Allgemeine Arbeitsvorschrift 2

- 40 Desilylierung von siloxysubstituierten Acetalen (allgemeine Formel VI)

- Zu 1,00 mmol der Siloxyverbindung (allgemeine Formel VI), gelöst in 10 ml THF gibt man bei 0°C 694 mg (2,20 mmol) Tributylammoniumfluorid × 3 H<sub>2</sub>O, rührt 5–10 min bei dieser Temperatur und läßt je nach Schutzgruppe z. B. 18–22 h (SiMe<sub>2</sub>tBu) bzw. z. B. 30–45 min (SiPh<sub>2</sub>OtBu) bei Raumtemperatur reagieren. 45 Filtration über 3 g Kieselgel (32–63 µm, tBuOMe/Ethanol 10 : 1, 0,7% Et<sub>3</sub>N) und Chromatographie an 50 g Kieselgel (32–63 µm, tBuOMe/PE/Ethanol 10 : 5:1, 0,7% Et<sub>3</sub>N) ergibt die Hydroxyverbindung.

#### Allgemeine Arbeitsvorschrift 3

- 50 Synthese der Phosphorsäurediamidate

#### Umsetzung der Verbindungen der allgemeinen Formeln (II) und (III) → (I)

- 1,00 mmol der Hydroxyverbindung, gelöst in 20 ml abs. Methylenchlorid werden mit 560 µl (4,00 mmol) Et<sub>3</sub>N und 120 µl (1,50 mmol) N-Methylimidazol versetzt. Bei 0°C gibt man 388 mg (1,50 mmol) N,N-Bis-(2-chloret- 55 hyl)-phosphorsäureamid-dichlorid hinzu und rührt 16 h bei +5°C (DC-Kontrolle: tBuOMe/Hexan/EtOAc 3 : 1:6, R<sub>f</sub> (Monochloramid) = 1,0 bis 1,5 × R<sub>f</sub> (Hydroxyverbindung)). Bei nicht vollständiger Umsetzung werden nochmals 0,5 eq. N-Methylimidazol/Phosphorsäureamid-dichlorid zugesetzt. Anschließend leitet man über 1–2 h einen kräftigen, trockenen NH<sub>3</sub>-Strom hindurch (DC-Kontrolle: tBuOMe/Hexan/EtOAc 3 : 1:6, R<sub>f</sub> 60 (Diamidat) = 0,2 bis 0,3 × R<sub>f</sub> (Hydroxyverbindung)). Der größte Teil an ausgefallenen Salzen wird durch Filtration über Kieselgel (32–63 µm, 3 g, tBuOMe/EtOH 10 : 1, 0,7% Et<sub>3</sub>N) entfernt Flashchromatographie an Kieselgel (32–63 µm, 40 g, tBuOMe/PE/EtOH 10 : 1:1, 0,7% Et<sub>3</sub>N) ergibt das Produkt nach Einengen und Trocknen im Hochvakuum als weißen bis schwach gelben erstarrten Schaum.

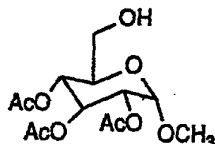
- 65 Allgemeine Arbeitsvorschrift 4

#### Deacetylierung von peracetylierten Ketophosphamidacetalen

Ein Gemisch aus 0,20 mmol des peracetylierten Kohlenhydratacetals in 1 ml Methanol und 500 mg Ionenaustauscher Amberlyst A26 (stark basisch, C1-Form) wird 40 min mit Ultraschall behandelt. Man pipettiert die methanolische Lösung und wäscht den Ionenaustauscher mehrfach mit Methanol. Am Ionenaustauscher festhaftendes Produkt wird durch jeweils 5–10 minütige Ultraschallbehandlung in Lösung gebracht. Evaporieren des Lösemittels und Säulenfiltration an 2 g Kieselgel (32–63  $\mu$ m, tBuOMe/Pe/Methanol 6 : 1 : 2, 0,7% Et<sub>3</sub>N) ergeben das Produkt.

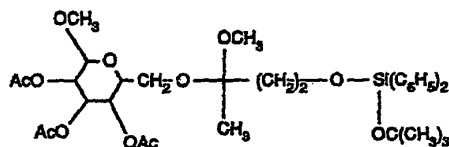
## Ausgangsverbindungen

## Beispiel I

Methyl-2,3,4-tri-O-acetyl- $\alpha$ -D-glucopyranosid

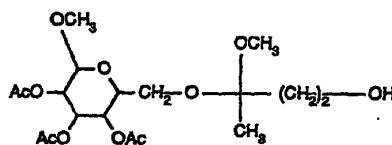
10,8 g (19,2 mmol) Methyl-2,3,4-tri-O-acetyl-6-O-trityl- $\alpha$ -D-glucopyranosid werden in 100 ml 1-Butanol/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (5 : 1) gelöst, vorsichtig mit 30 ml 90% TFA versetzt und nach 30 min bei 0°C mit 200 ml ges. K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>-Lösung neutralisiert. Extraktion mit EtOAc, Waschen mit ges. K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>- und NaCl-Lösung ergibt nach Trocknen über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> und Einengen ein kristallines Rohprodukt. Chromatographie an Kieselgel (130 g, EtOAc/PE 1 : 1) ergibt 3,74 g (62%) der Titelverbindung als farblose Kristalle und 685 mg (11%) Methyl-2,3,6-tri-O-acetyl- $\alpha$ -D-glucopyranosid als farbloses Öl.  
Mp.: 105–107°C (Ether/PE)  
[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>20</sup> = +141 (c = 1, Chloroform)

## Beispiel II

Methyl-6-O-[(1RS)-3-(tert.Butoxy-diphenylsiloxy)-1-methoxy-1-methylpropyl]-2,3,4-tri-O-acetyl- $\alpha$ -D-glucopyranosid

548 mg (1,71 mmol) der Verbindung aus Beispiel I werden nach der Arbeitsvorschrift 1 mit 979 mg (2,74 mmol) 4-(tert.Butoxy-diphenylsilyl)-2-methoxy-but-1-en und 107 mg (0,43 mmol) PPTS in 15 ml wasserfreiem Methylenchlorid umgesetzt. Reaktionszeit 30 min, Chromatographie an 130 g Kieselgel (32–63  $\mu$ m, tBuOMe/Pe 2 : 3, 0,7% Et<sub>3</sub>N).  
Ausbeute: 959 mg (83% d.Th.) eines farblosen Öls.  
R<sub>f</sub> = 0,28 (tBuOMe/Hexan 2 : 3)  
[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>20</sup> = +74,8 (c = 1, Aceton)

## Beispiel III

Methyl-6-O-[(1RS)-1-methoxy-3-hydroxy-1-methylpropyl]-2,3,4-tri-O-acetyl- $\alpha$ -D-glucopyranosid

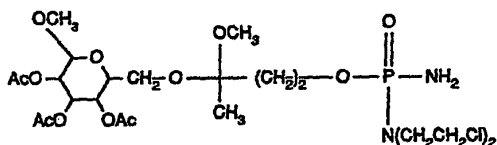
2,09 g (3,08 mmol) der Verbindung aus Beispiel II in 20 ml THF werden entsprechend der Arbeitsvorschrift 2 mit 1,17 g (3,70 mmol) TBAF  $\times$  3 H<sub>2</sub>O desilyliert. Reaktionszeit: 50 min bei Raumtemperatur, Chromatographie an 50 g Kieselgel (32–63  $\mu$ m, tBuOMe/PE 4 : 1, dann tBuOMe/Ethanol 10 : 1, 0,7% Et<sub>3</sub>N).  
Ausbeute: 1,14 g (88% d.Th.) eines farblosen Öls.  
R<sub>f</sub> = 0,25 (tBuOMe/Hexan/Ethanol 10 : 5 : 1).

$[\alpha]_D^{20} = +50,7$  (c = 1, Aceton)

# Herstellungsbeispiele

## Beispiel 1

Methyl-6-O-[(P-RS,1RS)-3-[N,N-Bis-(2-chlorethyl)-diamidophosphato]-1-methoxy-1-methylpropyl]-2,3,4-tri-O-acetyl- $\alpha$ -D-glucopyranosid



1,14 g (2,71 mmol) der Verbindung aus Beispiel III werden in Gegenwart von 2,26 ml (16,3 mmol) Triethylamin und 0,32 ml (4,07 mmol) N-Methylimidazol mit 1,05 g (4,07 mmol) N,N-Bis-(2-chlorethyl)-phosphorsäureamid-dichlorid in 10 ml Methylenchlorid 5 h nach Arbeitsvorschrift 3 phosphoryliert und anschließend  $\text{NH}_3$ -Gas eingeleitet. Chromatographie an 80 g Kieselgel (32–63  $\mu\text{m}$ , tBuOMe/PE/Ethanol 20 : 1:1, 0,7%  $\text{Et}_3\text{N}$ ).

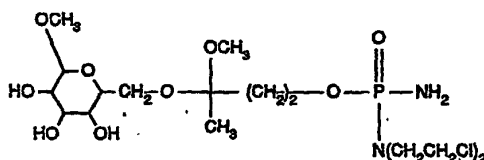
Ausbeute: 1,14 g (67% d.Th.) hellgelbes Öl

$R_f = 0,10$  (tBuOMe/Hexan/EtOAc 3 : 1:6)

$[\alpha]_D^{20} = +71,2$  (c = 1, Aceton)

## Beispiel 2

Methyl-6-O-[(P-RS,1RS)-3-[N,N-Bis-(2-chlorethyl)-diamidophosphato]-1-methoxy-1-methylpropyl]- $\alpha$ -D-glucopyranosid



74,0 mg (118  $\mu\text{mol}$ ) der Verbindung aus Beispiel 1 werden in 150  $\mu\text{l}$  Methanol mit 400 mg Amberlyst A 26 entsprechend der Arbeitsvorschrift 4 deacetyliert.

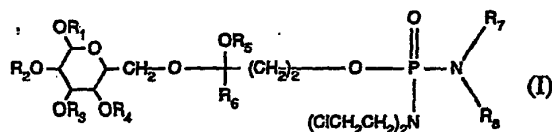
Ausbeute: 51,6 mg (88% d.Th.) weißer, erstarrter Schaum.

$R_f = 0,45$  ( $\text{CHCl}_3$ /Methanol/Hexan 6 : 2:1)

$[\alpha]_D^{20} = +67,2$  (c = 1, Methanol)

## Patentansprüche

1. Verbindungen der allgemeinen Formel (I),



in welcher

$R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^3$  und  $R^4$  gleich oder verschieden sind und für Wasserstoff, geradkettiges oder verzweigtes Alkyl mit bis zu 6 Kohlenstoffatomen oder für eine Hydroxyschutzgruppe stehen,

$R^5$  für geradkettiges oder verzweigtes Alkyl mit bis zu 8 Kohlenstoffatomen steht,

$R^6$  für geradkettiges oder verzweigtes Alkyl mit bis zu 8 Kohlenstoffatomen steht,

$R^7$  und  $R^8$  gleich oder verschieden sind und für Wasserstoff oder für geradkettiges oder verzweigtes Alkyl mit bis zu 6 Kohlenstoffatomen stehen, das gegebenenfalls durch Chlor substituiert ist, und wobei der Zuckerrest für Aldohexosen und die entsprechenden Pyranosiden steht und sowohl in der D- oder L-Form und mit  $\alpha$ - oder  $\beta$ -Konfiguration am anomeren Zentrum vorliegen kann.

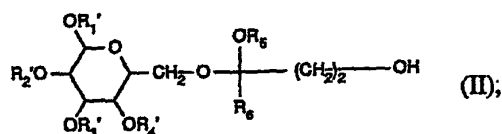
2. Verbindungen der allgemeinen Formel (I) gemäß Anspruch 1,

in welcher

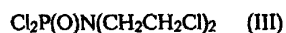
$R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^3$  und  $R^4$  gleich oder verschieden sind und für Wasserstoff, geradkettiges oder verzweigtes Alkyl



- mit bis zu 4 Kohlenstoffatomen oder für Acetyl, Benzyl oder Benzoyl stehen,  
 $R^5$  für geradkettiges oder verzweigtes Alkyl mit bis zu 6 Kohlenstoffatomen steht,  
 $R^6$  für geradkettiges oder verzweigtes Alkyl mit bis zu 6 Kohlenstoffatomen steht,  
 $R^7$  und  $R^8$  gleich oder verschieden sind und für Wasserstoff oder für geradkettiges oder verzweigtes Alkyl mit bis zu 5 Kohlenstoffatomen stehen, das gegebenenfalls durch Chlor substituiert ist und wobei der Zuckerrest für Aldohexosen und die entsprechenden Pyranosiden steht und sowohl in der D- oder L-Form und mit  $\alpha$ - oder  $\beta$ -Konfiguration am anomeren Zentrum vorliegen kann. 5
3. Verbindungen der allgemeinen Formel (I) gemäß Anspruch 1, in welcher  
 $R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^3$  und  $R^4$  gleich oder verschieden sind und für Wasserstoff, geradkettiges oder verzweigtes Alkyl mit bis zu 3 Kohlenstoffatomen oder für Acetyl, Benzyl oder Benzoyl stehen, 10  
 $R^5$  für geradkettiges oder verzweigtes Alkyl mit bis zu 4 Kohlenstoffatomen steht,  
 $R^6$  für geradkettiges oder verzweigtes Alkyl mit bis zu 4 Kohlenstoffatomen steht,  
 $R^7$  und  $R^8$  gleich oder verschieden sind und für Wasserstoff oder für geradkettiges oder verzweigtes Alkyl mit bis zu 4 Kohlenstoffatomen stehen, das gegebenenfalls durch Chlor substituiert ist, 15  
und wobei der Zuckerrest für Aldohexosen und die entsprechenden Pyranosiden steht und sowohl in der D- oder L-Form und mit  $\alpha$ - oder  $\beta$ -Konfiguration am anomeren Zentrum vorliegen kann.
4. Verbindungen der allgemeinen Formel (I) gemäß Anspruch 1, in welcher  
 $R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^3$  und  $R^4$  gleich oder verschieden sind und für Wasserstoff, Methyl, Ethyl oder Acetyl stehen, 20  
 $R^5$  für Methyl oder Ethyl steht,  
 $R^6$  für Methyl steht,  
 $R^7$  und  $R^8$  für Wasserstoff stehen  
und wobei der Zuckerrest für eine D-Glucose mit  $\alpha$ - oder  $\beta$ -Konfiguration an anomeren Zentrum steht.
5. Verfahren zur Herstellung der Verbindungen der allgemeinen Formel (I) gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß man 25
- Verbindungen der allgemeinen Formel (II)



- in welcher 35  
 $R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^3$  und  $R^4$  die oben angegebene Bedeutung von  $R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^3$  und  $R^4$  haben, aber nicht für Wasserstoff stehen  
und  
 $R^5$  und  $R^6$  die in den Ansprüchen 1 bis 4 angegebene Bedeutung haben, 40  
mit N,N-Bis-(2-chlorethyl)-phosphorsäureamidchlorid der Formel (III)



- in inerten Lösemitteln, in Anwesenheit einer Base und eines Hilfsstoffes umsetzt, 45  
anschließend eine Ammonolyse durchführt,  
und im Fall, daß  $R^7$  und/oder  $R^8$  nicht Wasserstoff bedeuten, die oben aufgeführten übrigen Substituenten nach üblichen Methoden einführt,  
und in einem letzten Schritt gegebenenfalls durch Abspaltung der Schutzgruppe  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$  und/oder  $R^1$  die Hydroxyfunktionen freisetzt. 50
6. Arzneimittel enthaltend eine oder mehrere Verbindungen der Ansprüche 1 bis 4. 55
- 60
- 65

- Leerseite -